



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>C07H 5/02, C07B 59/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale:</b> <b>WO 97/42203</b> <b>(43) Date de publication internationale:</b> 13 novembre 1997 (13.11.97)
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/BE97/00056 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 30 avril 1997 (30.04.97) <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 9600388                      2 mai 1996 (02.05.96)                      BE <b>(71) Déposants (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> COINCIDENCE S.A. [BE/BE]; Sart Tilman, Bâtiment B30, B-4000 Liège (BE). UNIVERSITE LIBRE DE BRUXELLES [BE/BE]; Avenue F. D. Roosevelt 50, B-1050 Bruxelles (BE). UNIVERSITE DE LIEGE [BE/BE]; Place du XX Août 7, B-4000 Liège (BE). <b>(72) Inventeurs; et</b> <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> DAMHAUT, Philippe, E. [BE/BE]; Rue de l'Horizon 10, B-4032 Chenee (BE). MONCLUS, Michel [BE/BE]; Rue de la Centenaire 60, B-7050 Jurbise (BE). VAN NAMEN, John, J. [BE/BE]; Kastanjestraat 27, B-9500 Geraardsbergen (BE). MULLENEERS, Eric [BE/BE]; Rue des Frères Vanbellinghen 64, B-1480 Tubize (BE). MORELLE, Jean-Luc, E. [BE/BE]; Rue Lanfray 29, B-1050 Bruxelles (BE). LEMAIRE, Christian, F. [BE/BE]; Allée des Verdiers 7, B-4432 Alleur (BE). LUXEN, André [BE/BE]; Rue Thier de l'Eau 4, B-4560		<b>Ocquier (BE).</b> LAURICELLA, Benjamin, P. [BE/BE]; Rue des 14 Verges 61, B-4430 Ans (BE). <b>(74) Mandataires:</b> VAN MALDEREN, Eric etc.; Office Van Malderen, Place Reine Fabiola 6/1, B-1083 Bruxelles (BE). <b>(81) Etats désignés:</b> JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
<b>(54) Title:</b> METHOD AND DEVICE FOR SYNTHESISING LABELLED COMPOUNDS <b>(54) Titre:</b> PROCEDE ET DISPOSITIF DE SYNTHÈSE DE COMPOSÉS MARQUÉS <b>(57) Abstract</b> <p>A method for synthesising compounds labelled with any isotopic element is disclosed. The method comprises the steps of preparing the labelling agent, labelling a precursor in the form of a protected substrate, pre-purifying and deprotecting same, and forming a final solution of the resulting compound. The deprotection step, in which the labelled precursor is converted into a labelled compound, is performed directly on a solid medium in a column or a cartridge. A device for synthesising the labelled compound according to said method is also disclosed.</p> <b>(57) Abrégé</b> <p>La présente invention concerne un procédé de synthèse de composés marqués avec un quelconque élément isotopique, comportant les étapes de: préparation de l'agent de marquage, marquage d'un précurseur sous forme d'un substrat protégé, pré-purification, déprotection et mise en solution finale, caractérisé en ce que l'étape de déprotection, c'est-à-dire la transformation du précurseur marqué en composé marqué, est réalisée directement sur un support solide compris dans une colonne ou dans une cartouche. La présente invention concerne également le dispositif de synthèse du composé marqué selon le procédé de l'invention.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

PROCÉDÉ ET DISPOSITIF DE SYNTHÈSE DE COMPOSÉS MARQUÉS

10 Objet de l'invention

La présente invention concerne un nouveau procédé de synthèse de composés marqués tels que le 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose, plus communément appelé fluoro-désoxy glucose ou FDG.

15 L'invention concerne également un dispositif de synthèse desdits composés marqué qui repose sur ce procédé, rendant possible une opération automatisée incorporant éventuellement un kit d'équipement à usage unique.

20

Arrière-plan technologique

Le FDG est un marqueur dont l'usage est en croissance en imagerie médicale nucléaire. Cette molécule marquée avec le radionucléide <sup>18</sup>F se comporte de façon  
25 analogue au glucose lors de la première étape de sa métabolisation dans le corps humain et permet de visualiser et de quantifier ce mécanisme fondamental. Elle est indiquée pour le diagnostic de nombreux dysfonctionnements.

La méthode de synthèse du FDG la plus  
30 répandue est la méthode dite de Hamacher, qui est décrite dans Hamacher K., Coenen H. et Stöcklin G., Efficient

Stereospecific Synthesis of No-carrier-added 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-désoxy-D-glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, Journal of Nuclear Medicine 27, 235 (1986). Plusieurs variantes de cette méthode ont été  
5 mises au point et sont actuellement exploitées dans divers laboratoires de Tomographie par Emission de Positrons (TEP).

La synthèse repose essentiellement sur les étapes opératoires suivantes-:

**10 Préparation de l'agent de fluoration**

Dans une première étape, le  $^{18}\text{F}^-$  est activé au moyens d'agents "activateurs" comme le Kryptofix  $^{\circledR}$  (ou K2.2.2) de manière à le rendre plus réactif. Dans certaines publications on les appelle "agents de transfert de phase".

15 Le radionucléide est produit au préalable, généralement par irradiation d'eau enrichie en oxygène-18 avec un faisceau de protons issu d'un accélérateur de particules, sous forme  $\text{F}^-$  (par exemple  $\text{H}^{18}\text{F}$  en solution aqueuse).

**20 Marquage du précurseur**

Cet agent de fluoration, rendu totalement anhydre par ajouts d'acétonitrile ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) et évaporations à sec, est mis en présence d'un substrat de marquage (ou précurseur), généralement le 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-

25 trifluorométhanesulfonyl- $\beta$ -D-mannopyranose (plus communément appelé "triflate") solubilisé dans de l'acétonitrile. Une réaction de substitution s'ensuit où le groupement trifluorométhane sulfonate du substrat (c'est-à-dire du "triflate") est remplacé par l'atome  $^{18}\text{F}$  pour  
30 former du 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-1,3,4,6-tétra-O-acétyl-D-glucose (ou tétraacétylfluoroglucose ou TAFg sous la forme

abrégée).

#### Pré-purification

Les résidus de réactifs, et en particulier,  
5 le kryptofix ® K2.2.2 sont éliminés en passant la solution  
à travers un "Sep-Pak ® C18" sur lequel le TAFg est fixé.  
Ce Sep-Pak ® est ensuite rincé avec 10 ml d'HCl 0.1 M.  
L'activité est ensuite désorbée par 2 ml de  
tétrahydrofuranne (ou THF) vers le réacteur où celui-ci est  
10 totalement éliminé par évaporation.

#### Déprotection, en l'occurrence hydrolyse

Le précurseur, en l'occurrence le TAFg, est  
transformé en FDG par l'élimination de ses quatre  
15 groupements acétyles : ces groupements acétyles sont  
éliminés par une hydrolyse acide réalisée à chaud en  
solution aqueuse (2 ml HCl 1M à environ 130 °C pendant 15  
min.).

#### 20 Mise en solution injectable

La solution obtenue, contenant le FDG, est  
rendue injectable par passage à travers une colonne  
retardatrice d'ions qui en réduit l'acidité, suivie de Sep-  
Pak ® alumine et C-18, qui retiennent d'autres impuretés et  
25 d'un filtre pour la stérilité. Elle est rendue isotonique  
par adjonction de NaCl en quantité adéquate. Elle est prête  
pour le contrôle de qualité ou pour d'autres traitements de  
préparation à l'administration.

Cette technique comporte cependant une série  
30 d'inconvénients, dont les principaux sont :

- la durée de cette procédure est de l'ordre d'une  
cinquantaine de minutes, notamment en raison du nombre

d'opérations de chauffe ou d'évaporation successives, ce qui entraîne une perte d'activité de 30% du simple fait de la demi-vie du  $^{18}\text{F}$  qui est de 110 minutes.

- 5 - l'automatisation de cette procédure demande un équipement relativement compliqué et se prête d'autant plus difficilement à la réalisation d'un dispositif à usage unique.

Une étude récente de Mulholland G. Keith (Simple Rapid Hydrolysis of Acetyl Protecting Groups in the  
10 FDG Synthesis Using Cation Exchange Resins, Nucl. Med. Biol. Vol. 22, No. 1, pp. 19-23 (1995)) concernant l'hydrolyse a montré que l'acide HCl 1M pouvait être remplacé par une résine cationique présentant des fonctionnalités équivalentes. La résine sulfonique acide  
15 sous forme  $\text{H}^+$  (Dowex  $^{\circ}$  50) préalablement humidifiée, est placée dans le réacteur d'hydrolyse avant de commencer la synthèse. Le tétraacétylfluoroglucose (TAFg) résultant des étapes précédentes de la synthèse, solubilisé dans de l'éther est introduit dans le réacteur, sur la résine.  
20 L'éther est évaporé en 3 à 5 minutes. Le réacteur est chauffé à 100  $^{\circ}\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes. Au cours de la dernière minute, on ajoute sur la résine 2 ml d'eau. La solution extraite du réacteur contient le FDG directement disponible à un pH de l'ordre de 4 à 5.5.

25 Cette méthode qui, à notre connaissance, n'est pas exploitée pour l'utilisation *in vivo*, montre que l'hydrolyse acide peut être réalisée à sec sur support solide. Son principal intérêt tient au fait qu'elle rend inutile la purification au travers d'une colonne  
30 retardatrice d'ion. En effet, l'acidité de la solution de FDG obtenue est très faible et se situe dans les limites

injectables.

La méthode ne représente cependant aucun gain de temps par rapport à l'hydrolyse "classique" de Hamacher (11-15 min). La suppression d'un réactif, l'HCl 1M, pour  
5 l'hydrolyse est compensée par l'adjonction de la résine dans le réacteur d'hydrolyse, résine qui de surcroît doit être conditionnée avant usage. Cette méthode maintient la nécessité de chauffage et d'évaporation des solvants.

Une autre étude récente de F. Füchtner et al.  
10 (Basic Hydrolysis of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-1,3,4,6-tétra-O-acetyl-D-glucose in the Preparation of 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-D-glucose, Appl. Radiat. Isot., Vol. 47, No. 1, pp. 61-66 (1996)) a montré que l'hydrolyse, réalisée habituellement en milieu acide, pouvait être réalisée en milieu basique  
15 beaucoup plus rapidement et à température ambiante.

La solution résultant de l'étape de marquage est évaporée à sec, ne laissant que le TAFg (et d'autres résidus non volatils) sur les parois du réacteur de marquage. Une solution aqueuse de NaOH (de préférence 2 ml,  
20 0.3M) est transférée dans le réacteur non chauffé. Après 2 minutes, le TAFg est hydrolysé en FDG avec un rendement de l'ordre de 80%. L'avantage principal de ce procédé est la rapidité de la réaction : 2 minutes au lieu de 8 à 10 minutes pour l'hydrolyse acide.

25 En pratique cependant, le fait que la réaction puisse être réalisée à température ambiante ne constitue pas un avantage dans un dispositif en réacteur, car avant (ou pendant) hydrolyse, il sera de toute façon nécessaire d'inclure un dispositif de chauffage pour  
30 évaporer l'acétonitrile (ou l'éther) provenant de l'étape de marquage et qui accompagne nécessairement le TAFg.

### Buts de l'invention

La présente invention vise à fournir un procédé perfectionné permettant de résoudre les difficultés et inconvénients précités, et vise en particulier à :

- 5 - réduire la durée et la complexité de la synthèse, et
- simplifier l'appareillage.

Le procédé selon la présente invention a tout particulièrement pour objectif de simplifier la procédure pour rendre plus facile son automatisation et de réduire la  
10 durée de la synthèse pour améliorer son rendement, tout en maintenant, voire en améliorant, le rendement chimique du processus de synthèse.

Des avantages spécifiques au procédé et au dispositif de l'invention sont indiqués ci-après en  
15 référence à la description de formes d'exécution possibles de l'invention.

### Éléments caractéristiques de l'invention

Le procédé selon l'invention concerne les  
20 méthodes de synthèse de composés marqués avec un quelconque élément isotopique et utilisable notamment dans le domaine médical (RMM, thérapie, imagerie médicale, ...), basées sur le marquage d'un substrat organique dont les groupes fonctionnels déterminés sont préalablement protégés au  
25 moyen de groupements protecteurs qui, après marquage, peuvent être éliminés facilement par hydrolyse.

Le procédé est caractérisé en ce que l'élimination de ces groupements protecteurs dans l'étape de déprotection est réalisée directement sur un support  
30 solide, compris dans une colonne ou cartouche, présentant une forte affinité pour la molécule protégée et une affinité faible pour la molécule déprotégée.



On entend par "groupes fonctionnels", des fonctions telles que alcool, thiol, phénol, thiophénols, amines, cétones, aldéhydes, acides carboxyliques, etc.

On entend par "groupements protecteurs", des groupements (suivant la fonction à protéger) tels que acétyle, éthers, esters, thioesters, thioéthers, imines, enamines, amides, carbamates, N-Alkyles, N-Aryles, N-hétéro dérivés, cétales, acétales, etc.

On entend par "colonne" ou "cartouche" toute forme de conditionnement à phase stationnaire utilisable en chromatographie et incluant éventuellement des conteneurs en plastique ou en verre, des colonnes, etc.

Ces produits sont vendus dans le commerce et sont en particulier utilisés en SPE (Solid Phase Extraction) ou chromatographie en phase stationnaire solide.

Selon une forme d'exécution préférée de l'invention, telle qu'appliquée à la synthèse du FDG d'après la méthode de Hamacher, la déprotection est réalisée directement sur la colonne ou cartouche de support solide ayant servi à la pré-purification ou la reformulation du précurseur marqué (élimination des résidus de réactifs et élimination de l'acétonitrile).

La cartouche utilisée peut être par exemple de type C18, C8, tC18, NH2, Diol, polystyrène divinylbenzène (SDB) ou autres phases polymériques telles que disponibles par exemple sous les marques suivantes :

Cartouches Maxi-clean™ de Alltech :

- cartouche C18 300 mg (Alltech numéro 20922)
- 30 - cartouche C8 300 mg (Alltech numéro 20946)
- cartouche NH2 300 mg (Alltech numéro 210040)

Ces cartouches existent également en versions 600 mg et 900 mg.

Cartouches Waters de 50 mg à 10 g, en particulier :

- cartouches C18 de type Sep-Pak short body (Waters numéro  
5 WAT 020 515)
- cartouches tC18 (trifonctionnelle) de type Sep-Pak short  
body de 400 mg (Waters numéro WAT 036 810)
- cartouche d'extraction Waters OASIS HLB

Cartouches Varian :

- 10 - Microbond Elut C18 (référence 1214-4002)
- Microbond Elut C8 (référence 1214-4405)
- Microbond Elut PS-SDB (référence 1214-4011)

Cartouches Macherey-Nagel :

- Chromabond C18 500 mg (référence 730 003)
- 15 - Chromabond Phenyl 500 mg (référence 730 084)

Les cartouches et colonnes utilisées contiennent entre 50 mg et 10 g de support solide. Les quantités préférées sont de 200 à 800 mg. D'autres quantités sont également possibles.

- 20 Selon l'invention, le support solide est de type phase normale, inverse ou de polarité intermédiaire.

- 25 Selon une autre forme d'exécution préférée de l'invention, le support solide est de type phase échangeuse d'ions ou mélange de phases échangeuses d'ions avec une ou plusieurs phases normales ou inverses.

Selon l'invention, le support solide peut être sous forme de grains, de membranes, de feuilles et/ou de capillaires.

- 30 Par exemple dans le cas d'une déacétylation comme celle du TAFg, le support solide est de préférence de faible polarité.

En outre, pendant l'étape de déprotection du précurseur, le support solide est avantageusement imprégné par un agent permettant ou accélérant cette déprotection. Cet agent de déprotection peut être une solution aqueuse, 5 de préférence basique, ou une solution aqueuse acide.

Selon une autre variante d'exécution, l'agent de déprotection est le support solide lui-même.

Ladite solution aqueuse basique est de préférence une solution de NaOH et ladite solution aqueuse 10 acide est de préférence une solution de HCl. Selon cette forme d'exécution, le support solide contenu dans la colonne ou la cartouche lors de l'étape de déprotection reste imprégné par la solution acide ou basique pendant 1 à 5 minutes. De plus, on utilise de préférence des 15 concentrations en NaOH ou en HCl dans les solutions basique ou acide comprises entre 0,25 et 2M.

Le précurseur marqué se fixe plus efficacement sur le support solide en milieu aqueux ou en milieu aqueux contenant une proportion faible de solvant 20 organique. Dès lors, la solution de TAFg dans l'acétonitrile (résultant de l'étape de marquage du procédé de Hamacher) est avantageusement diluée avec de l'eau dans une proportion de 10 parties d'eau pour 1 partie de solvant. D'autres dilutions sont également possibles; des 25 dilutions à partir de 5:1 permettent une fixation satisfaisante du TAFg. Il est également apparu qu'il peut être avantageux de diluer la solution de marquage avec une solution acide, par exemple de l'HCl 0,1M, pour améliorer et simplifier l'efficacité de la pré-purification dans le 30 cas où cela est utile, ou toute autre solution aqueuse.

Le mélange est transféré à travers la colonne ou la cartouche de support et ensuite rejeté. Le TAFg,

ainsi que certains de ses dérivés, notamment les variétés de TAFg partiellement déacétylés, sont retenus sur le support. Bien entendu, le volume de la colonne ou la cartouche et la quantité de support solide qu'elle contient  
5 doivent être suffisants pour retenir l'essentiel du TAFg et de ses dérivés.

La colonne ou la cartouche est ensuite rincée avec une solution aqueuse, soit neutre, soit légèrement acide. Ces rinçages ont pour objectif d'entraîner vers le  
10 rejet les traces d'acétonitrile ainsi que de certains résidus de l'étape de marquage présents dans le premier transfert à travers la colonne ou la cartouche.

On notera que le rinçage avec l'HCl 0.1M est facultatif : il dépend de la nature des réactifs utilisés  
15 dans l'étape de marquage ou de la composition du diluant ajouté dans la solution marquée avant son transfert à travers la colonne ou la cartouche.

Dans son application à la synthèse du FDG et pour autant qu'un support de type C18 soit utilisé, la  
20 procédure décrite jusqu'à ce point est globalement conforme au procédé Hamacher.

Une solution de NaOH est transférée rapidement (quelques secondes) sur la colonne. Son volume est au moins celui que peut contenir la colonne. Le volume  
25 transféré sur la colonne peut dépasser le volume de celle-ci, auquel cas l'excès est envoyé au rejet. L'expérience a montré que cet excès n'entraîne qu'une quantité négligeable des composés utiles vers le rejet.

Le support solide reste généralement sous  
30 NaOH pendant 1 à 5 minutes. C'est pendant cette période qu'à lieu la déprotection (hydrolyse). La déacétylation complète du TAFg fixé sur le support solide donne lieu au

FDG, qui n'a aucune affinité pour le support solide, et se retrouve donc dans la solution qui baigne le support solide. Des concentrations en NaOH comprises entre 0.2M et 2M ont été expérimentées avec succès (concentration optimale variable suivant le support utilisé). D'autres concentrations sont également envisageables, y compris une concentration nulle sur certains supports si l'hydrolyse peut être spontanée et rapide, sans ajout de NaOH, ce qui simplifierait considérablement la purification ultérieure.

10 La molarité en NaOH de la solution et le volume de la colonne définissent la quantité totale de soude dans la colonne ou la cartouche. L'optimisation à ce niveau consiste à réduire cette quantité totale en vue de faciliter plus tard la neutralisation (ou l'élimination) de la soude.

La durée pendant laquelle la colonne ou la cartouche reste remplie de la solution est celle nécessaire pour obtenir une déprotection quasi-complète du TAFg de départ. Elle dépend notamment de la molarité.

20 Comme alternative à l'utilisation d'une solution de NaOH, une solution d'HCl peut être transférée sur la colonne, et la déprotection peut être également réalisée sur le support solide de manière semblable. La réalisation complète de l'hydrolyse peut demander que la colonne ou la cartouche soit chauffée.

La colonne ou la cartouche est ensuite éluée par un éluant choisi parmi le groupe constitué par de l'eau, une solution aqueuse ou une solution physiologique. Le FDG est entraîné dans la solution. Celle-ci est transférée vers le flacon final au travers d'éléments tels que : colonne retardatrice d'ions, Sep-Pak<sup>®</sup> Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, C18, filtre destinés à la purifier et à la stériliser.

L'élution peut être effectuée avec une solution de HCl en vue de neutraliser le NaOH (ou l'inverse en cas d'hydrolyse acide). Dans ce cas, l'utilisation d'une colonne retardatrice d'ion est évitée. La mise à pH et isotonicité  
5 injectables de la solution finale est assurée par l'ajout d'un tampon. Ce tampon peut être une solution de citrate ou de phosphate de sodium, de tris ou tout autre tampon injectable.

La nature et les dimensions des éléments de  
10 purification dépendront notamment de la quantité de soude ou d'acide mis en oeuvre pour réaliser la déprotection (hydrolyse).

Les avantages principaux apportés par la déprotection dans une colonne ou une cartouche de support  
15 solide sont les suivants :

- à partir de l'étape de marquage, il n'y a plus aucune évaporation nécessaire;
- aucun solvant intermédiaire n'est utilisé (éthanol dans la synthèse de Hamacher, ou éther dans celle de  
20 Mulholland et des fabricants d'équipement CTI ou IBA) pour effectuer la pré-purification;
- la déprotection basique dans la colonne ou la cartouche est rapide et ne demande pas de chauffage;
- on évite l'utilisation d'un réacteur pour la  
25 déprotection;
- la quantité totale de base (ou d'acide) nécessaire à la réalisation de la déprotection est réduite au volume de la colonne ou la cartouche. Son élimination est de ce fait simplifiée. Alternativement, sa neutralisation est  
30 rendue possible par l'ajout de faibles volumes d'acide (ou de base) et de tampon;

- l'utilisation d'une colonne retardatrice d'ions est évitée.

La déprotection, par exemple par hydrolyse, dans un élément de support solide, et en particulier dans celui utilisé pour la pré-purification, permet donc de raccourcir la durée de la synthèse, de réduire le nombre de réactifs, et de réduire le nombre de composants d'un dispositif de production des composés marqués. Cette simplification rend la technique plus aisément transposable à l'utilisation d'un dispositif de synthèse automatisé incorporant un kit à usage unique.

Un dernier aspect de la présente invention concerne le dispositif de synthèse du 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose (FDG) par le procédé selon l'invention, dans lequel on utilise un support solide dans l'étape de déprotection, de préférence sous forme d'un kit d'équipement à usage unique.

Avantageusement, ce dispositif est automatisé.

20

#### Description d'une forme d'exécution préférée de l'invention

L'invention sera décrite plus en détails en référence à un exemple spécifique d'exécution illustré schématiquement dans la figure 1 annexée.

25

#### Exemple : synthèse de 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose en utilisant des rampes de vannes et des seringues stériles jetables

La synthèse de 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose (ou FDG) réalisée dans le module dont le schéma est repris en annexe (figure 1) comprend les étapes suivantes:

30

- récupération de l'eau enrichie en oxygène  $^{18}$ ,
- séchage de l'agent de fluoration  $[K/222]+^{18}F^-$ ,
- marquage du triflate,
- pré-purification,
- 5 - déprotection (hydrolyse) en milieu basique sur support solide, et
- formulation de la solution injectable.

Cette synthèse est réalisée dans un kit  
disposable unique (figure 1) comprenant les composants à  
10 usage unique suivants :

Composants	Marque ou fournisseur	Référence	Qté
Rampe 5 vannes (1)	PVB	888-105	2
Rampe 3 vannes (2)	PVB	888-103	1
Seringue 2 ml (3)	Terumo	BS-02S	1
Seringue 20 ml (4)	Plastipak	NO. 300134	1
Seringue 60 ml (5)	Plastipak	NO. 300856	2
Réacteur (6)	Alltech	66124	1
Flacons de réactifs (7)	Alltech	6655	4
Capsule de fixation	Alltech	66440	1
Septum	Alltech	95313	1
Cartouches tC18 (8)	Waters	36810	2
Cartouche alumine	Waters	20510	1
Cartouche SAX (M. PORE) (10)	Varian/3M		1
Filtre 0,22 $\mu m$ (11)	Millipore	SVGS0250S	1
Fliale stérile sous vide (12)	Mallinckrodt	DRN4370	1
Prolongateur	Vigon	110901	2
Aiguille	B. Braun	466 579/1	1



Les étapes opératoires suivantes permettent l'obtention du FDG via l'utilisation du système décrit ci-dessus. La réaction de synthèse se déroule comme suit :

- 5 1. Récupération de l'eau enrichie en oxygène-18 au moyen d'une résine anionique
2. Récupération par élution de la résine anionique, de l'activité sous forme de  $[K/222]^{18+} F^-$  en solution dans un mélange  $CH_3CN / H_2O$  -
- 10 3. Evaporation du solvant par chauffage au rayonnement infrarouge (105 °C) sous flux d'azote (2 min 30 sec)
4. Ajout de 1 ml de  $CH_3CN$ , évaporation (2 min 30 sec)
5. Ajout de 1 ml de  $CH_3CN$ , évaporation à sec
- 15 (détermination de la fin de l'évaporation grâce à une sonde de température)
6. Refroidissement du réacteur à 70 °C
7. Ajout d'une solution de précurseur de marquage (15 mg) dans du  $CH_3CN$  (1,7 ml)
- 20 8. Chauffage à 95 °C pendant 3 min (c'est l'étape de marquage)
9. Dilution de la solution résultante dans 25 ml d'eau
10. Passage de la solution diluée à travers une cartouche C18 (préalablement conditionnée par 5 ml d'éthanol et
- 25 10 ml d'eau) et envoi au rejet
11. Rinçage de la cartouche par 10 ml d'HCl 0,1 N et 10 ml d'eau qui sont envoyés au rejet
12. Séchage de la cartouche sous flux d'azote
13. Ajout de 0.7 ml de NaOH 1.5M sur la cartouche C18
- 30 14. Déprotection (hydrolyse) 1.5 min à température ambiante

15. Elution du FDG par 5 ml d'eau dans une seringue contenant 0.8 ml d'HCl 1.5M et 5 ml de tampon citrate
16. Passage de la solution résultante à travers une cartouche C18, une cartouche alumine neutre et un  
5 filtre 0,22  $\mu\text{m}$ ; la solution est récupérée dans une fiole stérile

REVENDICATIONS

1. Procédé de synthèse de composés marqués avec un quelconque élément isotopique, comportant les étapes de :
- 5 - préparation de l'agent de marquage,  
- marquage d'un précurseur sous forme d'un substrat protégé,  
- pré-purification,  
- déprotection, et
- 10 - mise en solution finale,  
caractérisé en ce que l'étape de déprotection, c'est-à-dire la transformation du précurseur marqué en composé marqué, est réalisée directement sur un support solide compris dans une colonne ou dans une cartouche.
- 15 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le composé marqué est le 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose (FDG).
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'on utilise une colonne ou une  
20 cartouche de type commercial telle qu'utilisée dans la technique dite SPE (Solid Phase Extraction).
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape de déprotection est réalisée directement dans la colonne ou  
25 la cartouche de support solide ayant servi à la pré-purification.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le support solide est de type phase normale, inverse ou de  
30 polarité intermédiaire.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le support solide est de faible polarité.

7. Procédé selon l'une quelconque des  
5 revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'étape de déprotection est réalisée sur un support solide de type phase échangeuse d'ions ou mélange de phases échangeuses d'ions avec une ou plusieurs phases normales ou inverses.

8. Procédé selon l'une quelconque des  
10 revendications 1 à 6, caractérisé en ce que l'étape de déprotection est réalisée sur une colonne ou une cartouche de type C8, C18, tC18, NH2, Diol, polystyrène divinylbenzène (SDB) ou cartouche d'extraction Waters OASIS HLB ®.

9. Procédé selon l'une quelconque des  
15 revendications précédentes, caractérisé en ce que la cartouche ou colonne utilisée contient entre 50 mg et 10 g, de préférence entre 200 et 800 mg, de support solide.

10. Procédé selon l'une quelconque des  
20 revendications précédentes, caractérisé en ce que le support solide est sous forme de grains, de membranes, de feuilles et/ou de capillaires.

11. Procédé selon l'une quelconque des  
25 revendications précédentes, caractérisé en ce que pendant l'étape de déprotection du précurseur, le support solide est imprégné par un agent permettant ou accélérant cette déprotection.

12. Procédé selon l'une quelconque des  
30 revendications précédentes, caractérisé en ce que la déprotection est réalisée par saponification.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que la saponification est réalisée à l'aide d'une solution aqueuse de NaOH.

14. Procédé selon l'une quelconque des  
5 revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la déprotection est réalisée par hydrolyse acide.

15. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que l'hydrolyse est réalisée à l'aide d'une solution aqueuse de HCl.

10 16. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le support solide contenu dans la colonne ou la cartouche lors de l'étape de déprotection reste en milieu acide ou basique pendant 1 à 5 minutes.

15 17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce que l'on utilise des concentrations en base ou en acide comprises entre 0,2 et 2M.

18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'agent de  
20 déprotection est le support solide lui-même.

19. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que après l'étape de déprotection, la cartouche ou la colonne est éluée par un éluant choisi parmi le groupe constitué par de  
25 l'eau, une solution aqueuse ou une solution physiologique, en ce que ledit éluant entraîne le composé marqué dans la solution et que celle-ci est recueillie et éventuellement purifiée, filtrée ou stérilisée.

20. Procédé selon l'une quelconque des  
30 revendications précédentes, caractérisé en ce que le composé marqué est le 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-désoxy-D-glucose (FDG).

21. Procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que l'on utilise une solution de précurseur marqué dans l'acétonitrile, et que ladite solution est diluée à partir de 5:1 avec de l'eau ou une  
5 solution aqueuse.

22. Procédé selon la revendication 21, caractérisé en ce que la solution de l'étape de marquage est diluée avec une solution acide, de préférence de l'HCl compris entre 0,1 et 1M.

10 23. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le précurseur protégé est le 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-trifluorométhanesulfonyl- $\beta$ -D-mannopyranose (TAFg).

15 24. Dispositif de synthèse d'un composé marqué par le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte un support solide pour réaliser l'étape de déprotection.

20 25. Dispositif selon la revendication 24, caractérisé en ce que le dispositif incorpore un élément à usage unique incluant ledit support solide.

26. Dispositif selon la revendication 23 ou 24, caractérisé en ce qu'il est automatisé.

25 27. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 24 à 26, caractérisé en ce que le composé marqué est le 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-désoxy-D-glucose (FDG).

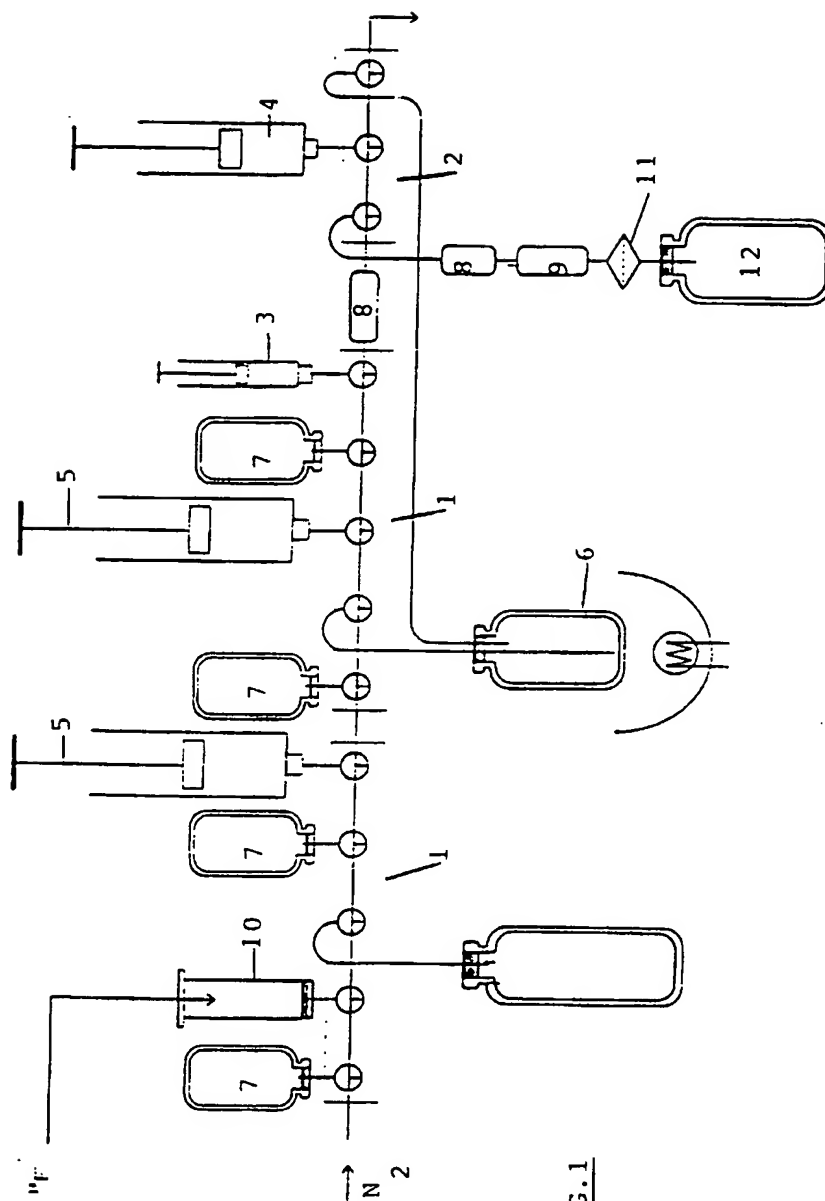


FIG. 1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/BE 97/00056

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 6 C07H5/02 C07B59/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 C07H C07B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 175, no. 1, 1988, AMSTERDAM NL, pages 49-58, XP002038636 M. J. KING-MORRIS & P. B. BONDO: "Stable, isotopically substituted carbohydrates: an improved synthesis of (6-13C)aldohexoses." see the whole document ---	1,3-8,24
X	JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 38, no. 9, 10 April 1996, pages 809-824, XP002038637 N. MINAKAWA ET AL: "Syntheses of [2-2H]-5-ethynyl-1-(beta-D-ribofuranosyl)i midazole-4-carboxamide and 5-ethynyl-1-([5-3H]-beta-D-ribofuranosyl)i midazole-4-carboxamide (EICAR)" see the whole document ---	1,3-7,24
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <span style="margin-left: 100px;"><input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.</span>		
* Special categories of cited documents : <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*G* document member of the same patent family</p> </div> </div>		
Date of the actual completion of the international search  <div style="text-align: center; font-size: 1.2em;">26 August 1997</div>		Date of mailing of the international search report  <div style="text-align: center; font-size: 1.2em;">05.09.97</div>
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  <div style="text-align: center; font-size: 1.2em;">Moreno, C</div>



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ional Application No

/BE 97/00056

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>NUCL. MED. BIOL., vol. 17, no. 3, 1990, pages 273-279, XP000676335 S. A. TOORONGIAN ET AL: "Routine production of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin." see abstract</p>	1-8,24
X	<p>--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 394 (C-631), 31 August 1989 &amp; JP 01 139591 A (TAKEDA CHEM IND LTD), 1 June 1989, see abstract</p>	1,3-8,24
A	<p>--- EP 0 588 480 A (GEN ELECTRIC) 23 March 1994 see the whole document</p>	1,24
A	<p>--- WO 94 21653 A (GEN ELECTRIC) 29 September 1994</p>	1,24
A	<p>--- THE JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, vol. 27, no. 2, February 1986, pages 235-238, XP000675995 K. HAMACHER ET AL: "Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution." cited in the application see the whole document</p>	1,24
A	<p>--- INT. J. APPL. RADIAT. ISOT., vol. 34, no. 6, 1983, pages 893-896, XP000676201 M. DIKSIC &amp; D. JOLLY: "New high-yield synthesis of 18F-labelled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose." see the whole document</p>	1,24
A	<p>--- JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 25, no. 7, 1988, pages 721-729, XP000675934 T. HARADAHIRA ET AL: "A new synthesis of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-galactose using [18F]fluoride ion." see the whole document</p> <p>-----</p>	1,24

2

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

CT/BE 97/00056

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0588480 A	23-03-94	US 5264570 A	23-11-93
		CA 2101623 A	15-04-95
		JP 6157572 A	03-06-94
-----			
WO 9421653 A	29-09-94	EP 0641350 A	08-03-95
		JP 7507813 T	31-08-95
		US 5436325 A	25-07-95
-----			

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De: x Internationale No

PCT/BE 97/00056

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C07H5/02 C07B59/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07H C07B

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 175, no. 1, 1988, AMSTERDAM NL, pages 49-58, XP002038636 M. J. KING-MORRIS & P. B. BOND: "Stable, isotopically substituted carbohydrates: an improved synthesis of (6-13C)aldohexoses." voir le document en entier ---	1,3-8,24
X	JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 38, no. 9, 10 Avril 1996, pages 809-824, XP002038637 N. MINAKAWA ET AL: "Syntheses of [2-2H]-5-ethynyl-1-(beta-D-ribofuranosyl)i midazole-4-carboxamide and 5-ethynyl-1-([5-3H]-beta-D-ribofuranosyl)i midazole-4-carboxamide (EICAR)" voir le document en entier ---	1,3-7,24
-/-		

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

26 Août 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

0 5. 09. 97

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Moreno, C

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

le Internationale No

T/BE 97/00056

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>NUCL. MED. BIOL., vol. 17, no. 3, 1990, pages 273-279, XP000676335 S. A. TOORONGIAN ET AL: "Routine production of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose by direct nucleophilic exchange on a quaternary 4-aminopyridinium resin." voir abrégé</p>	1-8,24
X	<p>--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 394 (C-631), 31 Août 1989 &amp; JP 01 139591 A (TAKEDA CHEM IND LTD), 1 Juin 1989, voir abrégé</p>	1,3-8,24
A	<p>--- EP 0 588 480 A (GEN ELECTRIC) 23 Mars 1994 voir le document en entier</p>	1,24
A	<p>--- WO 94 21653 A (GEN ELECTRIC) 29 Septembre 1994</p>	1,24
A	<p>--- THE JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, vol. 27, no. 2, Février 1986, pages 235-238, XP000675995 K. HAMACHER ET AL: "Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2-[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution." cité dans la demande voir le document en entier</p>	1,24
A	<p>--- INT. J. APPL. RADIAT. ISOT., vol. 34, no. 6, 1983, pages 893-896, XP000676201 M. DIKSIC &amp; D. JOLLY: "New high-yield synthesis of 18F-labelled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose." voir le document en entier</p>	1,24
A	<p>--- JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 25, no. 7, 1988, pages 721-729, XP000675934 T. HARADAHIRA ET AL: "A new synthesis of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-galactose using [18F]fluoride ion." voir le document en entier</p>	1,24

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements fournis aux membres de familles de brevets

De de Internationale No  
PCT/BE 97/00056

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0588480 A	23-03-94	US 5264570 A	23-11-93
		CA 2101623 A	15-04-95
		JP 6157572 A	03-06-94
-----			
WO 9421653 A	29-09-94	EP 0641350 A	08-03-95
		JP 7507813 T	31-08-95
		US 5436325 A	25-07-95
-----			